动 物 学 研 究 1996，17（3）：275—286 CN 53-1040／Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

双滴虫与细胞核起源问题的探索*

——庆祝潘清华老师八十寿辰——

李靖炎
（中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室 昆明 650223）

摘要 分析了可能用作研究原始性细胞核的模型的涡鞭毛虫与双滴虫核，发现实际上只有后者是适用的。

以蓝氏贾第虫（*Giaridia lamblia*）作为双滴虫类的代表，对其核作了多方面的考察，发现其核中确实还没有核仁；核被膜上有天然的缺口；但核内已经有了核骨架及5种组蛋白。比较的免疫印迹检查表明，在检查到的各种原生生物中，蓝氏贾第虫的着丝粒／动粒蛋白最接近于原细菌的相应蛋白。

有人怀疑蓝氏贾第虫缺少线粒体及典型高尔基氏器等原始性特征实际上不过是由于过寄生生活所致。本文针对这种怀疑进行了多方面的分析。其实所有过自由生活的双滴虫类都没有线粒体及典型高尔基氏器，看来也全都没有核仁，核被膜全都有缺口。

依据上述的发现，对真核细胞发生之初原始性细胞核的特性进行了推断，进而对细胞核的整个起源过程进行了分析：认为在真核细胞的原细菌祖先体内就已经有了核骨架；多个类核体的DNA结合在其上而构成了核区。我们关于组蛋白的分子进化研究表明，核小体组蛋白的共同祖先在极早的时候就已经分化成了4种。因此可以相信，真核细胞的原细菌祖先很早就有了4种核小体组蛋白和核小体。

本文着重分析了染色体的起源过程并进一步发展了过去已经提出的核被膜起源于原始性内质网的学说（李靖炎，1979），并分析论述了原始性细胞核的进化过程。

关键词 双滴虫类，蓝氏贾第虫，细胞核的起源，原始性细胞核

1 细胞核作为真核细胞的根本标志

把真核细胞与占原核生物绝大多数的真细菌加以比较，不难找到数十项明显的差别。但随着70年代末原细菌类（Archaebacteria，archaea）的发现及其后的研究，人们得知上述差异中的很大部分只是真细菌和真核细胞的差别，而原细菌和真核细胞在这些方面却是相同的。早在80年代初就已经有把握地说真核细胞必定是起源于古代的某种原细菌（李靖炎，1981）。80年代的研究只是更加丰富和深化了这一判断（李靖炎，1989）。80年代源真核生物（Archezoa）的提出和研究（Cavalier-Smith，1987，1989），更加缩小了真核生物与原核生物的差距，因为原核生物没有的线粒体、典型的高尔基氏器和80S型的核

* 国家自然科学基金资助项目内容
本文1995年7月7日收到，1996年3月4日修回

糖体，源真核生物也同样没有。核小体和核小体组蛋白本来是真核细胞普遍具有的和特有的（典型涡鞭毛虫例外），但原细菌类看来普遍具有类核小体，而90年代初又在产甲烷细菌体内找到了在进化上与核小体组蛋白亲缘上密切相关的"组蛋白亲缘蛋白"（histone-related protein）（Sandman 等，1990；Tabassum 等，1992；Agha-amini 等，1993）。真核细胞基因组中所特有的 TATA Box 和在转录上所特用的转录因子 TFII D 和 TFII B，90 年代也都在原细菌体内找到（Wolf-Defer 等，1990；Marsh 等，1994；Ouzounis 等，1992）。真核生物所普遍具有的特异结构"蛋白水解酶复合体"（proteasome）也在热原质体（*Thermoplasma*）中找到了其原型（Zwickl 等，1992）。所有这些新的发现都进一步把真核生物与原细菌联系到一起。相信在不久的将来，人们即可弄清楚真核细胞究竟是起源于原细菌中的哪一类。

在这样的背景下，究竟应怎样区分最原始的真核细胞与其最接近的原细菌祖先的问题就突出来了。"9+2"型的鞭毛肯定出现得比细胞核为早，但是，显然不能用它们的有无作为判别的标志，因为无论在高等生物或原生生物，毕竟有太多的真核细胞是没有鞭毛的。因此，能够作为真核细胞的明显标志的还只有具备核被膜的细胞核。从这一点来看，细胞核的进化形成也正是整个真核细胞起源过程的关键。

2 原始性细胞核的研究模型

2.1 模型材料在进化研究上的意义

为了研究历史上曾经发生过的某一进化过程，人们往往从现存的生物中间寻找一个适宜的材料，用以作为早已逝去了的关键性物种、结构或生命活动的模型，对之详加研究以便从中取得有用的信息。如此得到的信息往往是古生物学的资料或胚胎学的资料所不能提供的。例如以现存的鸭嘴兽作为卵生的原始哺乳动物的模型，文昌鱼作为脊椎动物之祖先的模型，就对哺乳动物和脊椎动物的起源研究作出了重要贡献。虽然人们明知现存的真哺乳类（包括有袋类和有胎盘类）并不是从现存的或古代的鸭嘴兽进化而来（单孔类源于柱齿兽类，真哺乳类来源于古兽类，后者方与柱齿兽同源）。

鸭嘴兽之所以被用作研究哺乳动物的古老祖先的模型，是因为它表现了一系列原始特征，如卵生、单泄殖孔、极原始的乳腺——变形的汗腺、骨骼上的一系列爬行动物的特征等等。鸭嘴兽也具有一系列由于适应于特殊生活方式而来的特化特征。利用它作为研究哺乳动物之早期进化的模型材料时，首先就必须把这两类特征正确地加以区分。有时正确地作出这种区分并不容易。但无论如何，如果要研究乳腺和泌乳生理的起源和进化，鸭嘴兽将是极好的模型材料。

在发生有明显的平行进化的情况下，也可以用系统发生上全然不同的材料作为研究的模型。曾有人用多细胞绿藻团藻的发生作为研究多细胞动物之起源的模型。我们也可以把巨大的含有发达的内膜系统的大卵硫菌（*Thiovulum majus*）作为研究原始内质网发生

** 字头 arche 的希腊文意为"开始的"，因此将 archezoa 意译为"源真核生物"。不译为"原真核生物"是为了与 proeukaryote 中译文相区别。后者是指真核细胞的最接近的原核祖先。字头 archae 的原意为"古老时代的"，但译之为"古"却不恰当。archae 是一专用的学术字头，而"古"字在汉文中却是一用得极广的普通形容词，用之于专门名词，难免会造成一些可笑的混乱。因此我们把 archaebacteria 译为"原细菌"而不译为"古细菌"。

的模型（虽则这种细菌是真细菌而非原细菌）。

提出一种研究模型实际上也就是提出了一种科学假说。虽则提出时已有一定的根据，但是究竟适用与否，则有待于科学实践的检验。提出的具体模型虽然未必正确，但是却如提出科学假说一样，是科学发展的必由之路。

2.2　以涡鞭毛虫的细胞核作为原始性细胞核的模型以及与之相关的细胞核起源假说

现存原生生物的核虽然形态上多种多样，但在活动机理和大的结构体制上，除少数例外，其实并没有什么区别，因此要从中找到能作为进化模型的种类，并不容易。

在找到双滴虫核作为模型以前，我们实验室曾长期用涡鞭毛虫的细胞核作为原始性细胞核的模型。这主要是因为其染色体在整个细胞周期中始终保持着浓聚状态而且在亚显微结构上相似于某些真细菌的类核体，有时甚至是极度相似的〔例如一种根瘤菌的类核体(Courret, 1978)〕。在进化转录活动时，两者都是从致密的染色质结构中向外伸出 DNA 侧环，以便进行转录。两者都不含 4 种核小体组蛋白，而只含少量染色体碱性蛋白；两者也都不含核小体和建立在核小体基础上的染色质结构。

在这样的基础上把涡鞭毛虫类的核用作原始性细胞核的模型，有一个非常重要的前提，即原细菌的类核体必须在上述的各方面跟真细菌的类核体基本一致。因为，既然真核细胞是起源于古代的原细菌，其染色体也必然起源于原细菌的类核体，要用涡鞭毛虫的核作为原始性细胞核的模型，其染色体的原始性也就必须表现在它们与原细菌的类核体的相似性上。如果真细菌的类核体和原细菌的类核体基本一致，涡鞭毛虫染色体与真细菌的类核体的一致也就代表着它们与原细菌的类核体的一致，它们的原始性也就毫无疑问。虽则两大类原核生物的类核体似乎应该是高度相似的，但是实际上是有出入的。

要用涡鞭毛虫的核作为原始性细胞核的模型，其染色体中的染色质碱性蛋白就应该与 4 种核小体组蛋白的共同祖先分子有着明显的相似性，这样才能说明在原始核进化为典型的细胞核时，4 种核小体组蛋白如何由其共同的祖先发生，核小体如何能够产生。

把涡鞭毛虫的核用作原始性细胞核的模型，还应该假定，至少在非常原始的涡鞭毛虫的细胞核中应该是没有核仁的。

如果上述的前提和假定能得到证实，就可以设想原始性的细胞核是由真核细胞的原细菌祖先体内的多个类核体为由原始性的内质网所产生的核被膜所包围而形成，类核体就成了染色体。以后这种原始染色体中与 DNA 相结合的碱性蛋白进化成了 4 种核小体组蛋白的共同祖先分子，后者与 DNA 结合成为类核小体。更往后，这种祖先分子进化成了 4 种核小体组蛋白，两个类核小体也就结合而形成真正的核小体。在此基础上，染色质的构造也发生了重大改变，形成了典型真核细胞的染色质。与此同时，核仁也进化形成，于是原始核也就进化成了典型的细胞核。

不幸的是，上述的前提和假设都没有得到证实；4 种核小体组蛋白在原始核进化为典型核时才发生的推测看来也不符合事实。

实际情况是，原细菌的类核体与真细菌的有很大差别。原细菌的类核体内普遍含有类核小体，这是真细菌的类核体中所没有的。原细菌的染色质构造也与真细菌的全然不同，却与真核细胞的极为相似（Takayanagi 等，1992）。在此基础上，原细菌的转录活动的进行，大概也与真细菌的有所不同。由此来看，涡鞭毛虫的染色体与真细菌的类核体的相似性并不是代表它们的原始性，却是特化的结果。

涡鞭毛虫染色体中的碱性蛋白与核小体组蛋白有进化上的联系的假定已经被否定。典型涡鞭毛虫隐甲藻（*Crypthecodinium cohnii*）染色体中的碱性蛋白 HCc 的氨基酸序列已被弄清楚（Sala-Rovia 等，1991），与核小体组蛋白的序列并无联系。因此设想核小体组蛋白由它们进化而来，是没有根据的。反之，如前所述，在产甲烷原细菌体内却已经找到了与核小体组蛋白有明显亲缘关系的组蛋白亲缘蛋白（Sandman，1990；Tabassum 等，1992；Agha-amini 等，1993）。我们的分子进化研究表明，核小体组蛋白的共同祖先分子在极早的时期，即在真核细胞的远古原细菌祖先体内，就已经分化成了 4 种核小体组蛋白。这与它们从原始核向典型核过渡时才发生的假说也是矛盾的。关于核小体发生的时间也是如此。其发生应该是与 4 种核小体组蛋白的发生直接相关。

关于较原始的涡鞭毛虫类的核中应该没有核仁的推测，同样也没有得到证实。纵裂涡鞭毛虫类被认为特别原始。其中的原甲藻属(*Prorocentrum*)曾被认为没有核仁。但我们的检查（李靖炎，1985）早已否定了有关的报道（Li Jingyan，1985），它们的核仁在电镜下也看得很清楚。

迄今还没有任何分子进化的研究表明，涡鞭毛虫在真核生物的进化树中是最原始的一枝。18S rRNA、28S rRNA 和 5S rRNA 的大量分子进化研究都指出它们与纤毛虫类同源。其中也包括我们的研究（Li Jingyan，1986）。我们的 5.8S rRNA 的分子进化研究则表明，它们可能是后真核生物中很原始的一枝，而显然发生得比源真核生物为晚（李靖炎，1992），涡鞭毛虫有线粒体已说明了此点。

总之，涡鞭毛虫的核具有原始性的假说并未得到证实；以涡鞭毛虫的核作为模型而提出的细胞核起源设想已在几个方面被证明是不符合实际的。

2.3 以双滴虫类的核作为原始核的模型的可能性

双滴虫类属于还没有线粒体和典型高尔基氏器，核糖体仍与原核生物一样，是 70S 型的源真核生物。rRNA 的分子进化研究表明，它们比同属于源真核生物的微胞子虫类还更低等（李靖炎，1992；Sogin，1991），可能是现存所有真核生物中最原始的类群。因此，用它们的核作为原始性细胞核的模型也许是适宜的。

文献上有关它们细胞核的研究，特别是有关它们核的亚显微结构的研究很少。这却暗示着也许我们从中可以得到一些新的发现。

特别有意思的是，文献中仅有的几篇报道没有看到核仁。这一报道迄今没有被否定。如果它们的核中真的没有核仁，则显然可以视为是原始核的现存代表。

无论如何，现阶段是值得用它们的核作为原始性细胞核的模型来进行多方面的检查。我们实验室近 3 年来在这方面作了一系列的工作。目前我们还未发现这一模型有何不妥之处。

3 以贾第虫核作为双滴虫核的代表进行检查所得到的结果

蓝氏贾第虫（*Giardia lamblia*）是一种寄生于人肠道中的双滴虫。以它们的细胞核作为双滴虫核的代表，是因为它们已可在实验室中长期纯培养。迄今国际上有关双滴虫的分子生物学的研究绝大部分也是以这个种作为材料。

3.1 对核仁之有无的检查

有无核仁是可否作为原始性细胞核的一个标志。Soloviev（1963）用染示核酸的甲基

绿—派若宁法在兔贾第虫（*Giardia duodenalis*）上作了检查，发现其核中并无核仁的存在（Sogin, 1991）。Friend（1966）对鼠贾第虫（*G. muris*）的亚显微结构作了电镜观察，在核中也未见到核仁（Friend, 1966）。我们曾对鼠贾第虫同样作了核酸的细胞化学染色，结果也表明其核中并无任何富含 RNA 因而可被疑为核仁的结构；位于核中央的一大团乃是富含 DNA 的异染色质团（未发表的工作）。我们已对蓝氏贾第虫作过大量的电镜观察，迄今未在其中找到核仁，核中较致密的结构只有异染色质。在经过选择性的系列抽提以显示核骨架时，如果核内有核仁存在，核仁的残余结构必然会被看到。结果在蓝氏贾第虫的 DGD 厚切片中，核内的核骨架虽被清楚的看到，核仁的残余物却是没有的（Dai Jialing 等，1995）。蓝氏贾第虫的整体抽提片中，核内也同样只有核骨架而没有核仁的残余[①]。我们实验室还用 RNA 的优先染色法和核仁特异性的铋染法对蓝氏贾第虫作了电镜细胞化学的检查，结果也表明其核中没有核仁[②]。

贾第虫属没有核仁已经可以肯定。在其它双滴虫类中，已知旋核虫（*Spironucleus elegans*）（Brugerolle, 1973）、布鲁氏虫（*Brugerolleida algonquinensis*）（Desser, 1993）和鳟六鞭虫（*Hexamita salmoni*）（Ferguson, 1979）的核中都看不到任何可以怀疑为核仁的结构。Brurogelle（1974）声称膨六鞭虫（*Hexamita inflata*）的核中有一核仁（Brugerolle, 1974）；但是在他们所展示的电镜照片中，染色质难以区分。在八鞭虫（*Octomitus intestinalis*）的核中倒确实可以清楚地看到这种结构（Brugerolle, 1974）；但很可能跟鼠贾第虫核中的中央大异染色质团是同样性质的。事实上，Brurogelle（1977）在关于双滴虫类的进化图解中，已把八鞭虫、膨六鞭毛虫与锥滴虫（*Trepomonas* sp.）核中的这种核仁与贾第虫的异染色质团视为同一类的（Brugerolle, 1974）。

3.2 核被膜缺口的发现

按照核被膜起源于真核祖先体内的原始性内质网的学说（李靖炎，1979），在细胞核发生之初核被膜必然是不完整而有许多缺口的（李靖炎，1979）。但是这种不完整的细胞核被膜，过去我们在现存的原生生物中始终没有看到。通过对蓝氏贾第虫的细胞核的检查，我们终于找到了这种预期已久的核被膜缺口。

在蓝氏贾第虫细胞核的切面上，核内膜与核外膜间的核周腔很明显。在这一基础上我们发现蓝氏贾第虫的核被膜上常有大小不一的缺口。有时在一个核切面上，核被膜的缺口可能不只一个。在缺口的边缘处核内膜与核外膜是相互连续的，这意味着缺口并不是在制作切片时造成的假象（沈剑钊等，1996）贾第虫的连续超薄切片也证明了缺口的真实存在[①②]。

核被膜缺口在用高锰酸钾固定的材料中也得到证实，此时只有膜成分被很好地固定。

发现核被膜缺口以后，我们在别人摄制的蓝氏贾第虫和鼠贾第虫的电镜照片中也看到了核被膜上的缺口。

最近我们对文献中有关其它双滴虫类的核也作了检查，发现只要电镜照片比较清晰，无论是自由生活的膨六鞭虫（Brugerolle, 1974），还是过寄生生活的旋核虫（Brugerolle,1973）、八鞭虫（Brugerolle, 1974），都看到核被膜上的缺口（Brugerolle, 1973；1974）。而且这些缺口似乎比贾第虫的更大、更容易找到；只要沿着核周腔向前找

---

1 文弘 [illegible]

就行。核周腔的尽头处即是缺口的所在。至少在旋核虫，核被膜上似乎是没有核孔而只有缺口的。

3.3 核骨架的检查

已知高等动植物、纤毛虫、眼虫[1]、尖尾虫(*Oxyrrhis*)（文建凡等，1992）、典型涡鞭毛虫（方志林等，1992；Cai等，1992）等后真核生物都有核骨架。至于源真核生物体内有无核骨架，国内外尚无任何报道。源真核生物体内核骨架的有无，涉及到了核骨架究竟是在原始核形成以后方始发生的，还是有可能在原始核形成之前就已经发生了。

我们用常规的显示核骨架的方法在蓝氏贾第虫上进行了检查，先经一系列的选择性抽提、固定、DGD包埋、制厚切片、除去包埋剂，之后直接在电镜下观察，结果证明在核中核骨架已经有了（Dai等，1995）。在蓝氏贾第虫的细胞整体上进行抽提，不作切片即直接进行观察，也在两个核中见到了核骨架[①]。

这一结果表明，核骨架是有可能在真核细胞的原细菌祖先体内就已经发生了。

3.4 核纤层的检查

常规的方法显示出核骨架时，通常也就显示出核纤层的存在。但是在我们用常规的方法显示出蓝氏贾第虫的核骨架时，却看不到核纤层的存在（Dai等，1995）。这有两种可能：一是核纤层尚未产生，二是此时的核纤层尚极原始，不能象典型的核纤层那样经得起常规的选择性抽提。

在常规的超薄切片的电镜照片中，核被膜缺口处，核质与细胞质的交界处有时可见一个核纤层样的薄层。这有利于上述的第2种可能。最近文建凡以抗核纤层蛋白的抗血清对蓝氏贾第虫的总蛋白作了免疫印迹检查，发现其中是有核纤层蛋白的，但是仅只有一种，而不象高等生物那样有3种。这也有利于证明上述的第2种可能性。

3.5 着丝粒／动粒蛋白的检查

我们以抗着丝粒蛋白B的单抗和多抗以及抗动粒蛋白的单抗对一系列原生生物和原细菌作了免疫印迹检查（吴传芬等，1996），发现原细菌类也同样含有相应的蛋白，而且发现从原细菌到高等的原生生物，着丝粒／动粒蛋白有着连续的变化。在它们中间，贾第虫的情况正好介于原细菌与其它原生生物之间，是原生生物中间最近似于原细菌的（吴传芬等，1996）。这就从又一个方面证明了双滴虫类的原始性。

3.6 组蛋白的检查

我们的检查表明贾第虫已经有了5种组蛋白（吴刚等，1996）。这意味着双滴虫类已经有了核小体。表面看这似乎说明它们并不太原始；但是我们的分子进化研究表明，4种核小体组蛋白的分化发生在极早的时期，是在真核细胞的远古原细菌祖先体内就已经完成了，因为还早于产甲烷热菌（*Methanothermus*）与产甲烷杆菌（*Methanobacterium*）的“组蛋白亲缘蛋白”的分化（李靖炎，待发表）。

3.7 核分裂的观察

我们已对蓝氏贾第虫的核分裂作了初步的电镜观察（沈剑钊等，1996）。首先是核拉长，变为哑铃形，然后分裂为二。在整个过程中核被膜始终存在。但是与微孢子虫、变形虫、尖尾虫（Gao等，1986）和眼虫、锥体虫等等所进行的核内有丝分裂显著不同的

---

① 文建凡的工作

是，核内始终未见有纺锤体。与锥体虫的核分裂相似的是，核内始终未见有致密的中期染色体出现。

据 Brugerolle（1974），膨六鞭虫（*Hexamita inflata*）的核分裂与贾第虫的相近，核被膜也始终存在，但是有鞭毛基粒起着中心粒的作用，由此发出一些微管沿着拉长的核的外表面，紧贴着核被膜形成一单层，是为纺锤体的连续纤维，另有少量的微管穿过核的两极处的核被膜进入核内，是为纺锤体的染色体纤维（染色体在电镜下也未见到。Brugerolle，1974）。这可能是最原始的有丝分裂了，但是贾第虫的看来还更简单，也许竟是前有丝分裂（pre-mitosis）的。当然，这还需要作更为深入细致的观察。

4　贾第虫细胞核的原始特征是否由于过寄生生活而退化所致

由于贾第虫是寄生虫，所以有人怀疑它们缺乏线粒体等重大特征全都是因寄生所导致的退化。如此，其细胞核的种种特性也难以避开这种怀疑。

这种怀疑不无道理。自由生活的双滴虫类有发达的胞口结构，贾第虫的就退化了。但无论是自由生活的种类（Brugerolle，1974，1973），还是过寄生生活的其它双滴虫类（Brugerolle 等，1973，1974；Desser，1993；），全都没有线粒体和典型高尔基氏器。因此真核细胞的这两种基本细胞器的缺乏，显然不是由于过寄生生活而造成的，而是由于进化地位低等所致。

自由生活的膨六鞭虫和另一种六鞭虫（*Hexamita* sp.）的 16S rRNA 的核苷酸序列已经搞清，它们与蓝氏贾第虫是同源的，同样属于最早从真核生物中分歧出来的一枝（Cavalier-Smith，1993）。这表明蓝氏贾第虫 rRNA 上的各种原始特征也不是退化所致。

前面已指出，没有核仁和核被膜不完整，看来是所有双滴虫类的共同特征，并非寄生性的种类所特有。

双滴虫门中，属的数目不多；半数属完全自由生活。六鞭虫属则既有自由生活的种类，又有寄生性的种。这与种属繁多而又全部都过寄生生活的胞子虫门、微胞子虫门等，有很大的不同。胞子虫门等的寄生历史显然要比贾第虫属的长得多。在这种情况下，贾第虫属会因寄生而发生一系列重要特征的退化，而在胞子虫门却不发生，这是难以设想的。

贾第虫是在陆生脊椎动物体内过着肠道寄生生活的，这与污水中的自由生活相差不太大；从寄生的程度上来说，与胞子虫等的胞内寄生生活是不能相比的。肠道寄生会导致典型高尔氏器、核仁等的退化，胞内寄生生活却不会，这也是难以想象的。

还应指出，细胞核的结构体制是极端保守的，从大多数原生生物到人并无什么变化（Li Jingyan，1992）。如果寄生生活竟能使核仁这样重要的结构消失、核被膜出现缺口，那也实在是不可思议。

5　从双滴虫核的原始特征看细胞核的起源和进化

5.1　对原始性细胞核与真核细胞的原细菌祖先的特性的推测

从双滴虫的原始特性可以使人推测，在真核细胞发生之初，最初出现的细胞核必定是核被膜尚不完整的；虽然有 rDNA，但还没有核仁；已经有了 4 种核小体组蛋白和核小体，以及在核小体基础上构建起来的染色质构造；已经有了核骨架。

在此基础上还可以进一步对真核细胞的最近的原细菌祖先做出推测：它们是过着厌氧

生活的巨形原细菌；已经有了由外共生的螺旋体进化而来的鞭毛（Barth 等，1991）；体内已经有了由质膜内褶而来的发达的内膜系统——原始性的内质网；后者围绕着由若干个类核体结合在核骨架上而形成的"核区"；其类核体中已经有了 4 种核小体组蛋白和真正的核小体，以及真核细胞性的染色质构造。它们的核糖体还应与一般原细菌的没有什么区别。

5.2 关于染色体的起源

真核细胞的染色体只可能来自其原细菌祖先的类核体。但原核生物的一个类核体即包含一个或数个基因组，而在真核生物，只有一个完整的染色体组才能代表一个基因组。最原始真核细胞的不同的染色体只能从其原细菌祖先体内原本彼此完全相同的多个类核体进行分化而产生。

原细菌在体积上与真核细胞有很大的悬殊。要走上进化为真核细胞的道路，就必须逐步增大体积。体积的增大会在生存竞争中给个体的保存带来多方面的好处，因此这是可能的进化道路。但是与此同时，体积的增大又会导致繁殖速率的下降，而在低等生物，繁殖速率往往在物种的保存上是至关重要的。因此要能在增大体积的道路上走得成功，也是颇为困难的。

与个体体积的增大相适应，原细菌体内的基因组的拷贝数必须增多，而这又会导致类核体数的增多。巨大体积的长期稳定的保持，是以体内多个类核体长期稳定地代代相传作为前提条件。然而多个类核体的代代相传，又必然会使它们由于在不同的类核体积累起不同的突变，具有了不同的基因而逐步地越来越甚地发生分化。从彼此完全相同的类核体演变成为分别带有全然不同的基因的染色体，这是一个逐步演变的漫长过程，其间并无截然的界线。染色体间比较彻底的分化大约是在多细胞动植物体内方才完成的。在许多原生生物体内染色体间的分化程度还很低，所以染色体数也往往很不恒定。据文献报导，贾第虫的不同染色体的 DNA 中就有着大量的相同序列（Adams 等，1988）。

真细菌类的染色质中既无类核小体，更无核小体，因此其染色质在结构上与真核细胞的以核小体为基础的染色质相距甚远。对原细菌类的染色质构造的研究则表明，它们的与真核细胞的是相似的。现存的原细菌虽然也都没有核小体，但是却相当广泛地具有类核小体。在类核小体的基础上，盐杆菌染色质的构造实际上与真核细胞是非常相似的[13]。这也说明了真核细胞的染色质构造的来源。

在很长时间内人们始终未能在原始生物中间找到真正与真核生物的核小体组蛋白有着明显的亲缘关系的蛋白，虽则染色质碱性蛋白已找到的不少。直到 90 年代初，人们通过对从产甲烷原细菌中分离得到的 HMf、HMt、HMv 等"组蛋白亲缘蛋白"的一级结构的研究（Sandman 等，1990；Tabassum，1992；Agha-amini 等，1993）而终于找到了它们。可以认为 4 种核小体组蛋白的共同祖先分子也就是一种在真核细胞的远古祖先体内存在着的组蛋白亲缘蛋白，后者也会与 DNA 结合成为类核小体。与其他组蛋白亲缘蛋白不同的是，这种蛋白分子在极早的时期就已经分歧成了 H2A、H2B 的祖先分子和 H3、H4 祖先分子，两者随即又分化成了 H2A、H2B、H3 和 H4 四种。伴随着 4 种核小体组蛋白的产生，每两个类核小体相结合而进化成了真正的核小体。在此基础上，真核细胞的染色质也就形成了，虽则此时细胞核还没有进化形成。

5.3 关于真核细胞起源于哪一类古代的原细菌

作为一个大胆的假设，可以设想真核细胞的远古祖先就是一种古代的产甲烷原细菌，例如一种产甲烷球菌（*Methanococcus*），因为迄今还没有在其他的原细菌类群中间找到组蛋白亲缘蛋白。但是目前也还存在着另外一种可能性，即真核细胞起源于原细菌中间热原质体 *Thermoplasma* 所属的一枝。根据是真核生物普遍都具有相当复杂的"蛋白水解酶复合体"（proteasome），而后者的原形已在并且也仅在热原质体体内被找到，其他原细菌类都没有（Zwickl 等，1992）。按照这一设想，必须假定热原质体体内的组蛋白亲缘蛋白迄今还没有分离出来。这是颇可能的，因为从热原质体中分离出来的 HTa 蛋白在一级结构上与真细菌类的 HU 蛋白属于同一类。HU 蛋白过去虽曾被称为是"细菌组蛋白"，现在却已被发现实际上是一种高迁移率蛋白（HMG 蛋白）。因此 HTa 蛋白可能也只是一种 HMG 蛋白，而不是热原质体的真正的染色质碱性蛋白。

5.4 核被膜的起源和原始性细胞核的形成

核被膜是细胞核的标志。根据下列的事实我们认为核被膜起源于真核细胞原核祖先体内的原始性的内质网，而后者是由质膜内褶而产生的（李靖炎，1979）：1）原始性的内质网在现存的非光合的巨大原核生物体内（如大卵硫细菌 *Thiovulum majus*）即可见到。2）在各种原生生物体内经常可以看到核被膜与内质网膜相连续，从而可以把核被膜视为是整个内质网系统的一个特殊的组成部分；这种连续在高等生物的细胞中也可以看到。3）在有丝分裂的末期，子核的核被膜或者直接来自于内质网（如洋葱根尖细胞），或者起源于内质网性质的泡状成分。4）变形虫的核被膜被针刺造成缺口后，缺口部分的恢复不是依靠周围的核被膜的生长，而是由堵在缺口处的内质网膜变成为核被膜。

按照前面的推测，真核细胞的原细菌祖先体内就已经有了核骨架的结构；它是作为原细菌染色质执行机能时的支架而产生的，并与原细菌的染色质结合成为一个整体——"核区"（染色质区）而一起发展起来。

随着个体体积的增大，不仅类核体增多，由质膜内褶而产生的内膜系统——原始性内质网也会发展起来。由于核区中的核骨架纤维与染色质纤维的密集，内质网成分不能伸进核区内，而只能围在核区周围。

在原细菌很微小时，DNA 进行活动所需的成分靠自由扩散即可得到。但在体积长到一定程度以后，自由扩散就不能充分满足核区的需要，就必需有某种结构进行主动运输来加以保证。质膜本来就具有主动运输的功能，因此自然选择就迫使来自于质膜而又围绕在核区周围的原始性内质网承担起此项任务。

进化到真核细胞的直接祖先的阶段时，个体至少应该有小型原生动物的大小，此时核区与原始性内质网都已相当发达。此时原始性内质网进一步承担起使核区内保持着一种使染色质最适于进行活动的特殊的稳定的微环境的作用。为加强主动运输，原始性的内质网的直接邻贴核区的部分沿着核区的边缘膨大开来。而这种膨大却又承担起了一种全新的机能任务，即阻碍有用的化学成分从核区中扩散出去。这就可以降低主动运输的负担，从而降低能量的消耗。核区被包围的越完全，能量的节约也就越大。因此自然选择将迫使那些膨大不断的沿着核区的边缘进行扩展，终而至于包围住了整个核区，而只留下核孔作为核内合成的大分子物质出外的通道。双层的核被膜和原始性的细胞核也就这样形成了。

在这以后核内膜和核外膜的分化使得核被膜可以独立地完成主动运输的任务，其与内质网的连续也就不再像原来那样重要了。同时，核被膜又获得了一项更新的任务，即阻止

有害于 DNA 的物质进入核内。这在细胞获得了能够进行氧化磷酸化的共生菌和线粒体以后就显得更为重要，因为呼吸作用所造成的氧自由基和 H_2O_2 对 DNA 是特别有害的。

关于核孔复合体的起源和进化，目前还缺乏进行分析和推测所必需的资料。但是可以指出，检查双滴虫类的核孔会很有意思。在核被膜尚不完整时，核孔复合体应该还不会发生；如果已经有了，那也必定是极其特别的。

参 考 文 献

方志林，吴传芬，李靖炎，1992. 前环藻细胞核骨架及其真实性的研究. 动物学研究，14(1)：80—85

文建凡，吴传芬，李靖炎，1992. 特殊涡鞭毛虫——尖尾藻的核骨架. 动物学研究，13(1)：89—94.

吴传芬，李靖炎，代嘉陵，卢思奇，1996. 源真核生物贾第虫与原细菌着丝粒／动粒蛋白免疫印迹检查. 动物学研究，17(3)：323—330.

吴刚，李靖炎，1996，蓝氏贾第虫组蛋白的初步研究 动物学研究，17(3)：301—306.

沈剑钊，李靖炎，卢思奇，1996a. 蓝氏贾第虫核被膜缺口的电镜观察 动物学研究，17(3)：291—294.

沈剑钊，李靖炎，卢思奇，1996b 源真核生物蓝氏贾第虫的核分裂的初步观察. 动物学研究，17(3)：295—299.

李靖炎，1979. 细胞在生命进化历史中的发生 北京：科学出版社.

李靖炎，1981. 真核细胞的祖先问题 中国原生动物学学会第一次学术讨论会论文暨摘要汇编. 上海：华东师范大学出版社. 11—13.

李靖炎，1989. 真核细胞起源研究的进展. 见：细胞生物学进展第一卷. 北京：高等教育出版社. 185—209.

李靖炎，1992. 削偶合令祖法的提出. 动物学研究，13(4)：387—396

Adams R D, Nash T E, Wells T E. 1988. The *Giardia lamblia* trophozoit contains sets of closely related chromosomes. *Nucleic Acids Res.*, **16**: 455-456

Agha-Amiri K, Klein A, 1993. Nucleotide sequence encoding histone-like protein in the archaeon *Methanococcus voltae*. *Nucleic Acids Res.*, **21**(6): 1491.

Barth A, Stricker J, Margulis L, 1991 Search for eukaryotic motility proteins in spirochertes: immunological detection of a tektin-like protein in *Spirochaeta halophila*. *Biosystem*. **24**: 313-319.

Brugerolle G, Joyon L, Oktem N, 1973. Contribution a l'etude cytologique et phyletique des diplozoaires. II Etude ultrastructurale du genre *Spironucleus Protistologica*, 9(4): 495-502

Brugerolle G, Joyon L, Oktem N, 1973. Contribution a l'etude cytologique phyletique des diplozoaires. I Etude ultrastructurale du genre *Trepomonas*. *Protistologica*, **9**(3): 339-348.

Brugerolle G, 1974. Contribution a l'etude cytologique et phyletique des diplozoaires. III Etude ultrastructureale du genre *Hexamita*. *Protistologica*, **10**(1): 83-90.

Brugerolle G, Joyon L, Oktem N, 1974. Contribution a l'etude cytologique phyletique des diplozoaires. IV Etude ultrastructurale du genre *Octomitus*. *Protistologica*, **10**(4): 457-463.

Brugerolle G, 1977. Taxonomy, cytology and evolution of the mastigophora. The fifth International Congrss of *Protozoology*. 14-28.

Cai Shutao, Zen Congmei, Li Jingyan. Zai Zhonghe. 1992. Identification of the nuclear matrix and chromosome scafferd in dinoflagellate *Crypthecodinium cohnii*. *Cell Res.*, 2: 168-182.

Cavalier-Smith T, 1987. The origin of eukaryotes and archaebacterial cells: Endocytobilogy III. Annals of the New York Academy of Sciences. Vol. **503**: 17-54

Cavalier-Smith T, 1989. Eukaryotic evolution. The 14th international botanical congress proceedings. 214-223.

Cavalier-Smith T, 1993. Kingdom Protozoa and its 18 Phyla. *Microbiol. Rev.*, **57**(4): 953-994.

Dai Jialing, Li Jingyan, Lu Siqi, 1995. The detection of the nuclear matrix of the primitive eukaryote *Giardia lamblia*. *Cell Res.*, **5**(2): 273-278.

Desser S S, Hong H, Siddall M E, 1993. An ultrastructural study of *Brugerolleia algonquinensis* gen. nov. sp. nov. Eur. *J. Protistology*, **29**: 72-80.

Ferguson H W, 1979. Scanning and transmission electron microscopical observations on *Hexamita salmonis* related to mortalities in rainbow trout fry Salmo gairdneri. *J. of Fish Diseases*. **2**: 57-67.

Friend D S. 1966. The fine structure of *Giardia muris*. *J. Cell Biol.*, **29**: 317-332.

Gao Xiaoping, Li Jingyan, 1986, The nuclear division of the marine dinoflagellate *Oxyrrhis marina*. *J. Cell. Sci.*, **86**: 161–175.

Gourret J P, 1978. Description et interpretation des nucleoies structures observes dans des bacteroides de *Rhizobium*. *Biologie Cellulaire*, **32**(23): 299 306.

Li Jingyan, 1985. On the nucleoli of the dinoflagellate *Prorocentrum*. *Hydrobiologia*, **124**(1): 45–48.

Li Jingyan, 1986. Molecular evolution of 5S rRNA among ciliates and other lower eukaryotes. The Second Asian Conference on Ciliate Genetics, *Cell Biology and Molecular Biology* (July 2–7, 1986, Shanghai).

Li Jingyan, 1992. Evolutionary conservative phenomena in eukaryotic cells and evolutionary cell biology. *Cell Res.*, **2**: 203–208

Li Jingyan, 1995, Characterization of *Giardia* cell nucleus: its implication on the nature and origin of the primitive cell nucleus. *Cell Res*, 5(1): 115–124.

Marsh T L, Reich C I, Whitelock R B *et al*. 1994. Transcription factor IID in the archaes: sequences in the *Thermococcus celer* genome would encode a product closely related to the TATA-binding protein of eukaryotes. *Proc Natl Acad Sci. USA*, **92**: 4180–4184

Ouzounis C, Sander C, 1992. TF IIB, an evolutionary link between the transcription machineries of archaebacteria and eukaryotes. *Cell*, **71**: 189–190

Reiter W D, Hüdepohl U, Zillig W *et al*. 1990. Mutational analysis of archaebacterial promoter: Essential role of TATA box for transcription efficiency and start-site selection. *Proc Natl.Acad. Sci., USA*, **87**: 9509–9513.

Sala-Rovia M, Caput D, Jacques F *et al*, 1991 Molecular cloning and immunolocalization of two variants of the major basic nuclear protein (HCc) from the histone-less eukaryote *Crypthecodinium cohnii*. *Chromosoma*, **100**: 510–518.

Sandman K, Krzycki J A, Dobrinski *et al*. 1990 HMf, a DNA-binding protein isolated from the hyperthermophilic archaeon *Methanothermus fervidus*, is most closely related to histones. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **87**: 5788–5791

Sogin M, L, 1991. Early evolution and the origin of eukaryotes. Current Opinion in Genetics and Development, **1**: 457–463.

Soloviev M M, 1963 Cytochemical study of *Lamblia duodenalis*. *Parasitol. i Bolezni*, **1963**(6): 675–678.

Tabassum R, Sandman K M, Reeve J N *et al*, 1992. HMt, a histone-related protein from *Methanobacterium thermoautotrophicum* H. *J Bacteriol* **174**: 7890–7895.

Takayanagi S, Morimura S, Kusaoke H *et al*, 1992, Chromosomal structure of the halophilic archaebacterium *Halobacterium salinarium*. *J. Bacteriol*, **174**: 7207–7216

Zwickl P, Grziwa A, Pühler G *et al*. 1992. Primary structure of the *Themoplasma proteasome* and its implications for the structure, function, and evolution of the multicatalytic proteinase *Biochemistry*, **31**: 964–972.

DIPLOMONADS AND THE EXPLORATION ON THE ORIGIN OF CELL NUCLEUS

Li Jingyan

(*Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences Kunming* 650223)

The nucleus of dinoflagellates had been used as the model of the primitive nucleus. however, this model was found unsuitable. According to this model the chromosomal basic protein of dinoflagellates should represent a very primitive nucleosomal histone-related protein and the differentiation of four nucleosomal histones should take place after the emergence of the primitive nucleus. But both two deductions were found to be incorrect. in other respect, various studies of molecular evloution studies showed dinoflagellates were not the most primitive ones among present-existing eukaryotes.but might only be the primitive ones among

matakaryotes.

Superkingdom Archezoa seems to be the primitive eukaryotes,which possess no mitochondria, no typical Golgi apparatus, and no 80S type of ribosomes, but have 70S type of ribosomes just as prokaryotes have. According to the studies of molecular evolution of large rRNAs and 5.8S rRNA, diplomonads, in turn, seem to be the most primitive ones among the present-existing Archezoa, therefore, their nucleus might perhaps be the suitable model of the primitive cell nucleus.

Giardia lamblia was used as the representative of diplomonads and the nucleus of its trophozoite was studied in our laboratory in recent years. The following points were found:

1. No nucleolus was found with various detection methods.

2. The nuclear enevelope of *Giardia* was found incomplete for the first time. Large openings were seen in its nuclear envelope. The natural existence of the nuclear envelope openings has been confirmed by sequential ultrathin sectiontions.

3. Nuclear matrix was already found in its nucleus.

4. The nuclear. lamina seems very primitive because only lamin B was found it and it could not bear routine sequential specific extractions for demonstrating nuclear lamina and nuclear matrix.

5. The centromere protein B and kinetochore porteins of *Giardia* were found mostly simlar to the corresponding proteins in various archaebacteria.

6. *Giardia* nucleus was found already having five species of histones.

7. Our preliminary observations showed that spindle and spindle microtubules have not been found within the dividing nucleus of *Giardia*.

The possibility that the above described special characteristics were produced only due to the parasitic life of *Giardia*, was analyzed and refuted. In literature, nucleolus was never found in several other genera of diplomonads, and in other genera heterochromatin structures were mistaken for nucleolus. According to the electron-microscopical photographs in literatue we found that nuclear envelope openings not only existed in *Giardia*, but also existed in other diplomonads, whether parasitic or free-living.

The discovery of nuclear evelope openings in diplomonads confirmed our hypothesis on the origin of nuclear envelope from the primitvie endoplasmic reticulum in the prokaryotic acestor of eukaryotic cells (Li jing-yan, 1979).

In the light of the nucleus of diplomonads, we presumed that the primitive nucleus in evloutionary history should have nuclear matrix, nucleosomes, from species of nucleosomal histones and typical eukaryotic chromatin already, but still have no nucleolus and its nuclear envelope should be incomplete.

Furthermore, we analyzed the facts concerned and proposed an inference about the archaebacterial ancestor of eukaryotic cells. The whole process of the evloutionary formation of cell nucleus was investigated, especially the formation of eukaryotic chromatin. The significance of the emergence of nuclear matrix in the formation of eukaryotic chromatin was emphasized.

At the same time our hypothesis on the origin of nuclear envelope was also further developed.

Key words Diplomonads *Giardia lamblia*, The origin of cell nucleus, The primitive nucleus